UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1957 — N° 80

MÉCANISME PHYSIOPATHOLOGIQUE DE LA MALADIE DE MARCHIAFAVA MICHELI.

-- Rôle de la Properdine à propos de deux cas nouveaux

-- Examen des hématies de malade au microscope électronique

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 5 Juillet 1957

par

SERGE DULOU

Né le 18 Mars 1929, à CADILLAC (Gironde)

Examinateurs de la thèse

MM. DE GRAILLY, Professeur ..... *Président.*
FONTAN, Professeur .....
DAVID-CHAUSSÉ, Agrégé ..... *Juges*
RIVIÈRE, Agrégé .....

LIBOURNE
IMPRIMERIE R. OTTAVIANI
4, Place Decazes, 4

1957

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543917_0080

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1957 — N° 80

MÉCANISME PHYSIOPATHOLOGIQUE DE LA MALADIE DE MARCHIAFAVA MICHELI.

-- Rôle de la Properdine à propos de deux cas nouveaux

-- Examen des hématies de malade au microscope électronique

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 5 Juillet 1957

par

SERGE DULOU

Né le 18 Mars 1929, à CADILLAC (Gironde)

Examinateurs de la thèse

MM. DE GRAILLY, Professeur..... *Président.*
FONTAN, Professeur.....
DAVID-CHAUSSÉ, Agrégé..... *Juges*
RIVIÈRE, Agrégé.....

LIBOURNE
IMPRIMERIE R. OTTAVIANI
4, Place Decazes, 4

1957

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEUVEN

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. R. DUPÉRIÉ, L. CHELLE, PORTMANN.

DOYEN : M. SIGALAS. — **ASSESSEUR :** M. TAYEAU

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDERODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS, BEAUVIEUX, CREYX, MAURIAC, BONNIN, GOLSE.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	DE GRAILLY.	Pathologie gén. et expérimentale	SARIC.
id.	BROUSTET.	Clinique ophtalmologique	BESSIERE.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. inf. et orthop.	POUYANNE.
id.	MASSE.	Clin. des maladies infectieuses	AUBERTIN.
Clinique d'accouchements	RIVIERE	Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Clinique gynécologique	MAGENDIE.	Physique méd. et pharmaceutique.	PIFFAULT.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	LEGER.	Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Anatomie	DUFOUR.	Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Anatomie générale et histologie	MAYER.	Clin. mal. nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Hygiène et clin. de la tuberculose	PIECHAUD.	Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Médecine légale et du Travail	DERVILLEE.	Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	REBOUL.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Chimie	MESNARD.	Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Matière médicale	MASQUELIER.	Thérapeutique	F.-J. TRAIS SA
Pharmacie	VITTE	Hydrologie thérap. et climatologie	DUBARRY.
Physiologie	FABRE.	Méd et hyg. trop. et clin. mal. exot.	MORETTI.
Clin. méd. des mal. des enfants	FONTAN	Physique pharmaceutique (T. P.)	BLANQUET.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.	Carcinologie	LACHAPELE
		Bactériologie	MOUSTARDIER.

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), CAZAUX (Pharmacie 3e Section).
LAUMONIER (Médecine opératoire), DESPONS (Oto-rhino-laryngologie).

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

	MM.		MM.
Anatomie	RIGAUD	Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE.
id.	CABANIE	id.	ROMAIN
Biochimie médicale	NEUZIL	Pharmacie (2e Section)	QUILICHINI.
Pathologie expérimentale	FAURE	Histologie	STOLL.
Physique médicale	DUHAMEL		

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFERENCES AGRÉGÉ :

M. J. MARQUEVIELLE (Biochimie médicale), J. BIRABEN (Anatomie pathologique).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN.	Obstétrique	CHASTRUSSE
id.	LENG-LEVY.	id.	FAUGERE
id.	LAVIGNOLLE	Ophtalmologie	CORCELLE
id.	MARTIN-DUPONT	Oto-rhino-laryngologie	M. PORTMAN
id.	DAVID-CHAUSSE	Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
id.	J. RIVIERE	Pédiatrie et Puériculture	VERGER.
Chirurgie générale	CHAVANNAZ.	Médecine légale et méd. du travail.	L'EPEE.
id.	VILLAR	Odonto-stomatologie	BENOIT
id.	TINGAUD	Urologie	LANGE.
id.	DEPAULIS	Neurologie et psychiatrie	BLANC
id.	DARMAILLACQ	Pneumo-phtisiologie	FREOUR

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
Accouchements	CHASTRUSSE	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER.
id.	FAUGERE	Physiologie	Mme LINQUETTE.
Puériculture	VERGER.	Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBA
id.	PERY	Phytopharmacie	CORTESI
Législation pharmaceutique	COUSTOU.	Droit médical international	AUBY
Cryptogamie	LAUBIE.	Médecine légale	L'EPEE
Obstétricie sociale	MAHON	Séméiologie médicale	RIVIERE.
Organographie et Physiol. végét.	TEMPERE,	Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Chimie biologique analytique	NIVET.	Embryologie	STOLL
Chimie analytique	BABIN	Bactériologie	D. de ROSNA
Pathologie chirurgicale	VILLAR	Pathologie médicale	BERGOUIGNAN
id.	CHAVANNAZ	id.	LENG-LEVY.
id.	TINGAUD	id.	LAVIGNOLLE
id.	LAPORTE		

Le Secrétaire principal de la Faculté : M. GAYRAUD.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A MES PARENTS ET A MES BEAUX-PARENTS

A MA FEMME

A LA MEMOIRE DE MON COUSIN J. ROUIN

Etudiant en Médecine

Mort pour la France

A LA MEMOIRE DE MON COUSIN M. ROUIN

Ancien Elève de l'Ecole Polytechnique

Mort pour la France

A TOUTE MA FAMILLE

A MES CAMARADES QUI COMBATTENT EN ALGERIE

A MES AMIS

A Monsieur le Docteur MAUPETIT

En remerciement pour l'enseignement et les conseils qu'il a toujours su nous donner avec bienveillance.

A Monsieur le Docteur WALCH

Chez qui j'ai trouvé plus que de l'amitié.

AUX MEDECINS

DE L'HOPITAL DE LIBOURNE

A Monsieur le Docteur MOULINIER

Médecin assistant du Centre de Transfusion
et de Dessiccation du Plasme

Vous nous avez aidé et guidé pas à pas dans ce travail.

Nous espérons ne pas trop décevoir la confiance que vous nous avez témoignée et nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur J. LEURET

Interne des Hôpitaux de Bordeaux
Lauréat des Hôpitaux
Diplômé de Sérologie

Qui a mis spontanément sa compétence à notre service.

A NOS MAITRES
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

NOUS AVONS REALISE les clichés qui illustrent ce travail avec le microscope électronique, mis à notre disposition par la Fondation « Bergonié », que nous remercions vivement.

A NOS JUGES :

Monsieur le Docteur J. RIVIERE

Agrégé de Médecine Générale
Assistant des Hôpitaux

Monsieur le Docteur J. DAVID-CHAUSSÉ

Agrégé de Médecine Générale
Assistant des Hôpitaux

Monsieur le Professeur A. FONTAN

Professeur de Clinique Médicale
des Maladies des Enfants
Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'honneur
Officier des Palmes Académiques
Commandeur du Nichan El Iftikahr

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DE GRAILLY

Professeur de Clinique Médicale

Médecin des Hôpitaux

Membre Correspondant de la Société Médicale
des Hôpitaux de Paris

Médecin de la Fondation Bergonié (Centre Anticancéreux)

Chevalier de la Légion d'Honneur

Chevalier de l'Ordre de la Santé Publique

Officier des Palmes Académiques

Chevalier du Mérite Militaire

Qui nous a fait le très grand honneur d'accepter la Présidence de notre Jury de Thèse.

A maintes reprises, vous nous avez permis de bénéficier de votre enseignement technique et de votre école de charité humaine.

INTRODUCTION

La maladie de Marchiafava Micheli est une anémie au long cours, caractérisée par une hémoglobinurie nocturne et accompagnée de déglobulisation et d'ictère plus ou moins accusé. Entre les épisodes d'hémoglobinurie, on peut mettre en évidence la permanence d'une hyperhémolyse par la présence constante d'hémosidérine dans les urines.

En 1928, Marchiafava décrivit une anémie hémolytique avec crises hémoglobinuriques et hémosidérinurie permanente.

Il faut attendre vingt ans pour que le mécanisme physiopathologique commence à être perçu ; excepté un rapport de HYMANS Van den BERGH, en 1911, mettant en évidence un des défauts des hématies de malades atteints de maladie de Marchiafava Micheli, par leur hémolyse « in vitro » en présence de Co_2, ce n'est qu'à partir de 1937-1938, que l'étude de l'hémolyse est faite systématiquement.

Schématiquement les recherches ont franchi trois étapes :

— étude de l'hémolyse des hématies,

— recherche du facteur plasmatique qui entraîne l'hémolyse,

— étude de l'anomalie de structure des hématies.

JORDAN, HAM, DACIE, CROSBY, ISRAEL, et WILKINSON apportent une large contribution à l'étude de l'hémolyse « in vitro et in vivo ».

En 1954, PILLEMER et ses collaborateurs, par la découverte du système Properdine expliquent le mécanisme de l'hémolyse, mais il n'en reste pas moins que la sensibilité anormale des hématies au système hémolytique tel que le système Properdine, demeure inexpliquée. Quant à la raison du rythme nocturne de l'hémoglobinurie, des tentatives d'interprétation ont été proposées qui restent cependant peu satisfaisantes et contreversées.

Depuis 1951, les recherches de MATTHES, ont mis en évidence une anomalie de structure des hématies de malades. Des travaux encore plus récents confirment ce fait.

Il nous a semblé intéressant de faire le point sur le mécanisme physiopathologique de cette affection et d'essayer de synthétiser nos connaissances actuelles d'après les derniers travaux, à l'occasion de deux observations nouvelles recueillies dans le Service de Clinique Médicale de la Faculté de Médecine de Bordeaux (Professeur De GRAILLY).

Nous décrirons donc :

Les deux cas qu'il nous a été donné d'observer et d'étudier au point de vue clinique et sérologique.

Nous exposerons ensuite le mécanisme intime de cette affection, à la lumière des plus récentes découvertes et nous montrerons comment cette interprétation physiopathologique rend compte :

1° Des manifestations sérologiques si particulières, observées « in vitro » et dont découle le diagnostic ;

2° De certains caractères cliniques jusqu'alors inexpliqués ;

3° Des difficultés thérapeutiques.

OBSERVATION I

Ce cas a été observé dans le Service de M. le Professeur De GRAILLY, à l'Hôpital Saint-André, à Bordeaux.

M^me^ G... M..., âgée de 61 ans, entre dans le Service, le 23 février 1957, envoyée par le Docteur MOULINIER, pour syndrome d'hémoglobinurie paroxystique nocturne.

HISTOIRE DE LA MALADIE

Au début de l'année 1955, au mois de janvier, la malade commence à ressentir une certaine lassitude et si au début elle n'y prête guère attention, cet état progresse rapidement et fin janvier, tout effort lui est très pénible. L'entourage de la malade commence à s'inquiéter et trouve qu'elle pâlit chaque jour un peu plus.

Un matin, un de ses parents la trouve inerte, prostrée, incapable de faire le moindre effort. Un médecin est appelé ; devant un examen clinique négatif (il trouve seulement la malade excessivement pâle), il fait faire une numération formule.

— l'anémie est très importante : 1.000.000 G.R. $^{m}/_{mm3}$ mais en équilibre leucocytaire normal.

Il ordonne le repos absolu et commence un traitement à base de vitamine B 12 et d'extraits hépatiques.

Les mois passent ; la malade trouve peu d'amélioration à son état malgré la thérapeutique ; elle n'a plus d'appétit et commence à éprouver quelques coliques assez vagues et des douleurs assez mal localisées tantôt dans l'hypochondre droit, tantôt en barre épigastrique. L'anémie est toujours aussi sévère.

La malade est examinée par plusieurs médecins agissant à titre de consultants.

Après une série d'examens radiologiques de l'estomac et du colon, qui ne montrent aucune image suspecte, une ponction sternale est pratiquée : le diagnostic d'anémie de Biermer est posé.

La thérapeutique est alors intensifiée : opothérapie hépatique I V, médication martiale et vitamine B 12... il n'y a aucune amélioration.

Un matin, l'attention de la malade est attirée par l'émission d'urines foncées : cependant les urines émises dans la journée étaient de couleur normale. Pendant huit jours, les urines du matin devaient être encore foncées, ce qui fit porter le diagnostic « d'hématurie ».

Le traitement se compléta alors de vitamine K et de calcium.

Une période calme survint pendant une quinzaine de jours, puis une nouvelle crise apparut plus importante.

Cette fois, la malade s'aperçut que la veille de la crise elle avait uriné de façon abondante des urines très claires. Des coliques et des lombalgies l'avaient tenue éveillée une partie de la nuit, à trois heures du matin, elle émit des urines foncées et le lendemain matin elles étaient encore foncées pour aller en s'éclaircissant tard dans l'après-midi et devenir les jours suivants constamment foncées quelle que soit l'heure de la miction.

A la demande du médecin-conseil de la Sécurité sociale, le Docteur MOULINIER est appelé à examiner la malade ; ayant observé les urines de M^me^ G..., il put éliminer le diagnostic d'hématurie et porter celui d'hémoglobinurie. Frappé par le caractère nocturne de cette hémoglobinurie à l'occasion des précédents épisodes, il émit l'hypothèse d'une hémoglobinurie nocturne paroxystique et effectue les tests sérologiques capables de caractériser ce syndrome.

Dans les urines il est découvert la présence de granules d'hémosidérine.

L'étude des hématies de la malade montre « in vitro » une hémolyse en présence de sérum acidifié.

Le diagnostic de maladie de Marchiafava Micheli peut dès lors être posé avec certitude.

En janvier 1956, elle est hospitalisée à Tastet-Girard, où elle reçoit des transfusions d'hématies déplasmatisées et lavées trois fois dans du sérum physiologique à l'exclusion de toute autre thérapeutique ; son état s'améliore alors très rapidement.

Pendant l'année 1956, elle recevra six séries de transfusions ; l'hémoglobinurie a cessé et soumise à un traitement continu par la cortisone entre le mois d'août 1956 et janvier 1957, elle ne reçoit aucune transfusion, elle ne présente alors que des crises très légères.

Une nouvelle crise de déglobulisation motive son hospitalisation en février 1957. A l'occasion de cette nouvelle hospitalisation (service de clinique médicale, Hôpital Saint-André), un examen complet de la malade est effectué.

Antécédents personnels :

Maladies infectieuses de l'enfance,
Métrorragies à 42 ans,
Ménaupose à 45 ans,
Pas d'intoxication alimentaire ou médicamenteuse..

Antécédents collatéraux :

Pas d'antécédents familiaux,
Aucune notion d'anémie chronique.

Examen le 23 février 1957

Malade un peu forte, d'apparence robuste, teint subictérique, aspect cyanotique des extrémités et des pommettes.

Elle s'exprime facilement mais la mémoire est défaillante par instants.

Examen clinique :

Révèle peu de choses.

— Foie de volume normal, manœuvre de Murphy très douloureuse.
— Rate percutable sur 5 c/m.
— R.A.S. du point de vue cardio-vasculaire et nerveux.
— Douleurs à la pression des mollets.

Laboratoire : Etude de l'hémolyse « in vitro »

1° **Test de Ham**

pH 6,8 | Sérum normal + hématies de la malade ⇒ hémolyse + + +
Sérum de la malade + hématies de la malade ⇒ hémolyse + + +
Sérum de la malade + hématies donneur sain ⇒ pas d'hémolyse.

2° **Test de Dacie**

pH 6,8 | Sérum frais de malade + hématies de malade ⇒ hémolyse + + +
Sérum inactivé de la malade + hématies de la malade ⇒ pas d'hémolyse.

3° **Test de Crosby**

pH 6,8 | Sérum normal + hématies de malade + Thrombine ⇒ hémolyse + + +

4° **Test de Donath Landsteiner**

Négatif. Absence d'hémolysine biphasique.

Etude Immuno-hématologique

Test direct de Coombs : Négatif.

Absence d'anticorps sériques pathologiques.

Analyse cytologique des urines

Présence sur le frottis de sédiment urinaire de très nombreuses granulations pigmentaires tantôt libres tantôt agglomérées dans les cellules rénales altérées.

Le pigment est coloré en bleu par la méthode de Perls : **hémosidérine** abondante.

Titrage du complément

20 unités dans le sérum de la malade (0,1 cc)
40 « « « du témoin (0,1 cc)

Fer sérique

180 γ pour 100 cc.

Valeur de l'hématocrite %

27 à l'arrivée dans le Service le 23/2/57.
37 le 27/2/57.

Hémoglobine %

7 gr. le 23/2/57
11 gr. 2 le 27/2/57 (transfusion)

Urobiline

+	+	+	+	25/2/57
	+	+	+	27/2/57
	+	+	+	28/2/57
		+	+	1/3/57
			+	2/3/57
			+	6/3/57

Il n'y a ni acétone, ni glucose, ni sels biliaires, les pigments biliaires sont retrouvés en faibles quantités.

Traitement mis en œuvre

Le 23/2/57

Transfusions d'hématies (iso-groupe O et Rh +), déplasmatisées et lavées.

Cette thérapeutique déclenche une crise hémoglobinurique très importante.

Le 25/2/57

Transfusion identique avec les mêmes résultats.

L'enquête révèle que les hématies n'ont été lavées qu'une fois en sérum physiologique.

Le 26/2/57

La malade est traitée au Cortancyl : 6 comprimés à 5 m. gr. par jour.

Les douleurs épigastriques disparaissent peu à peu et la malade quitte le Service apparemment très améliorée.

Etat actuel

Le 15/4/57

La malade est assez peu ictérique, mais très asthénique. Depuis le traitement au Cortancyl, l'hémoglobinurie a perdu le caractère nocturne. Lorsqu'elle « prévoit » la crise elle absorbe 3 ou 4 comprimés de Cortancyl et les phénomènes douloureux disparaissent en quelques heures. Cependant, l'hémoglobinurie apparaît très atténuée.

OBSERVATION II

M. Du... 26 ans (Docteur MOULINIER)

HISTOIRE DE LA MALADIE

Le malade est en parfaite santé jusqu'à son incorporation dans l'armée, à l'âge de 20 ans ; pendant les six premiers mois il fait son instruction normalement et est autorisé à suivre le peloton d'élèves sous-officiers.

Au cours d'une épreuve minutée, il s'agit du « parcours du combattant », il fournit le maximum d'effort et arrive exténué. Quelques minutes après, des tremblements, un état nauséeux, un malaise indéfinissable l'obligent à s'aliter. Il passe une nuit très agitée et le matin urine pour la première fois foncé.

La fatigue n'a pas disparu et surpris par la teinte des urines, il demande à être examiné à l'infirmerie. Admis à l'infirmerie, il urine de nouveau : les urines sont claires, il est alors pris pour un simulateur.

M. Du... continue l'entraînement et constate, une deuxième fois, au cours de la même épreuve, le lendemain matin, que les urines sont rouge foncé. Au cours de son séjour à l'infirmerie, où il est admis il présente un ictère : il est alors hospitalisé à l'Hôpital de Saint-Maixent, avec le diagnostic d' « ictère apyrétique ».

A la sortie de l'Hôpital, le malade, au cours de chaque épreuve pénible, présentera les mêmes phénomènes : de l'hémoglobine est trouvée dans les urines, il est alors réformé.

Au cours d'épisodes hémoglobinuriques il est hospitalisé

plusieurs fois dans les hôpitaux militaires et civils, en particulier à l'Hôpital du Tondu, à Bordeaux, d'où il sort avec le diagnostic d'hémoglobinurie paroxystique « à Frigore ».

Etat actuel

Le malade est un homme d'apparence robuste, répondant clairement à l'interrogatoire. Actuellement ses urines sont foncées mais il estime que la crise n'est pas très forte.

Il décrit très bien les phénomènes qu'il ressent lors des crises assez importantes : une certaine lassitude et des douleurs à type de coliques intestinales sans émission de gaz ni diarrhée, puis le lendemain l'urine est foncée à la première miction de la journée pour devenir claire par la suite ; à mesure que la crise se poursuit, la teinte augmente et les jours suivants, toutes les mictions sont foncées. Le rythme nocturne ne réapparaît qu'à la fin de la crise.

Les crises durent plus ou moins longtemps : au début de la maladie, un à deux jours. Actuellement ces périodes sont variables, mais peuvent durer une dizaine de jours.

Le malade fait intervenir dans le déclenchement des crises, le rôle de différentes fatigues telles que sport, promenade en voiture. Il a remarqué que le fait de s'aliter l'après-midi entraîne dans la nuit une augmentation dans la teinte des urines.

Le malade a reçu divers traitements à base de vitamine B 12, extraits hépatiques, médication martiale, il n'a jamais été amélioré.

Actuellement, le malade suit un traitement au Cortancyl 6 comprimés à 5 m./gr. par jour pendant les crises. Les phénomènes douloureux sont amoindris mais l'hémoglobinurie subsiste.

Antécédents :

— Personnels : angine diphtérique à 14 ans.

— Collatéraux : R.A.S.

— Héréditaires : aucune notion d'anémie chronique.

Examen :

R.A.S., léger subictère.

Laboratoire : (Dr MOULINIER)

Groupe B type Rh +

Etude hémobiologique 13/4/57

Hématies : 2.990.000 $^{m/m\ 3}$
Hémoglobine : 10 gr. %
Hématocrite : 35 cc %
Volume globulaire moyen : 116 $\mu\mu$ 3
Hémoglobine globulaire moyenne : 33 $\gamma\gamma$
Concentration en Hb : 28 %
Indice de volume 1,3
Indice de couleur 1,13
Indice de saturation 0,83.
Leucocytes 5.600 $^{m/m\ 3}$

Monocytes	—	4 %
Lymphocytes	—	34
Poly-neutros	—	61
Poly-eosinos	—	1
Poly-basos	—	0

Etude de l'hémolyse « in vitro »

Test de Ham

pH 6,8

Sérum normal + hématies du malade ⟹ hémolyse + + +

Sérum du malade + hématies du malade ⟹ hémolyse + + +

Sérum du malade + hématies normales ⟹ pas d'hémolyse.

Test de Dacie

pH 6,8 | Sérum de malade frais + hématies de malade ⟿ hémolyse + + +

Sérum de malade inactivé + hématies du malade ⟿ pas d'hémolyse.

Test de Crosby

pH 6,8 | Sérum normal + hématies de malade + thrombine ⟿ hémolyse + + +.

Test de Donath Landsteiner

Négatif. Absence d'hémolysine biphasique.

Etude immuno hématologique

Tests globulaires

Test direct de Coombs : négatif.

Test direct à la papaïne : négatif.

Tests sériques

Absence d'anticorps pathologiques.

(Tests effectués à 4° et à 30°)

Analyse cytologique des urines

Nombreuses granulations pigmentaires qui se colorent en bleu par la méthode de Perls : hémosidérine abondante.

MECANISME PHYSIOPATHOLOGIQUE

La maladie de Marchiafava Micheli est avant tout caractérisée par une anémie HEMOLYTIQUE. Cette notion découle de deux faits :

— l'hémoglobinemie est toujours plus élevée que chez un sujet normal.

— les crises hémoglobinuriques surviennent lorsque l'hémoglobinémie est trop élevée.

Le phénomène a été observé par CAIN et CATTAN, au cours d'une prise de sang peu avant une crise hémoglobinurique. Ces auteurs ont remarqué que le plasma sanguin était fortement teinté en rouge : l'hémoglobinémie s'élevait avant l'apparition d'hémoglobine dans les urines.

Il y a donc hyperhémolyse INTRAVASCULAIRE. Le pouvoir catabolique du tissu réticulo-endothelial ne peut suffire et l'hémoglobine non catabolisée va passer dans les urines.

Expérimentalement le phénomène a été reproduit. FOX a injecté dans les veines de sujets sains des solutions d'hémoglobine et a remarqué que lorsque le taux dépassait 100 m/gr. % L'HEMOGLOBINURIE apparaissait. Le seuil rénal d'élimination est variable chez les sujets : son existence est acceptée par presque tous les auteurs.

Le catabolisme normal de l'hémoglobine est perturbé et nous trouvons chez ces malades un taux de bilirubine indirecte très élevé et un dosage de fer sérique de 180 γ. (Observation I).

LA CHRONICITE de l'anémie est mise en évidence par L'HEMOSIDERINURIE permanente. L'hémosidérinurie n'est pas spécifique de la maladie de Marchiafava Micheli, elle apparaît dans toutes les hémoglobinuries chroniques, cependant jamais avec une telle intensité. On l'observe sous forme de granulations couleur rouille, tantôt libres tantôt incluses dans les cylindres.

CROSBY et DAMESHEK en 1951, ont montré qu'il y avait un parallélisme entre la quantité d'hémosidérine excrétée et le taux d'hémoglobinémie ; l'hémosidérine n'est qu'un produit de dégradation de l'hémoglobine. Pour YUILE (en 1942), l'hémosidérine serait due à un phénomène de réabsorption d'hémoglobine et sécrétion d'hémosidérine.

La déglobulisation intense ne peut être suffisamment compensée par les centres hématopoiétiques, l'équilibre entre la formation et la destruction des hématies est rompu : l'ANEMIE SURVIENT.

CAUSE PREMIERE DE L'HEMOLYSE

L'hémolyse est due à un défaut globulaire et non à un facteur plasmatique pathologique chez le malade.

Ce fait est mis en évidence par deux séries d'expériences faites in vivo et in vitro.

— Lorsque des hématies de malades sont transfusées à un sujet sain on peut constater qu'elles ont une survie écourtée.

— Des hématies de donneurs sains ont une survie normale lorsqu'elles sont transfusées à un malade. Nous avons pu le constater chez M^me^ G... et M. D...

De plus, in vitro chez les deux malades nous avons observé que:

— les hématies étaient hémolysées par un sérum normal acidifié.

— le sérum des malades n'entraînait pas l'hémolyse d'hématies saines quelle que soit la méthode employée.

CE DEFAUT N'ATTEINT PAS TOUTES LES HÉMATIES.

DACIE et MOLLISSON ont transfusé à des individus sains des hématies de malades atteints de maladie de Marchiafava Micheli. Ils ont observé par le test de numération différentielle de ASHBY, que les hématies avaient une survie inégale :

— les dix premiers jours, 70 % des hématies transfusées avaient disparu.

— les vingt jours suivants, 10 %.

Seules 20 % des hématies avaient une survie normale d'environ quatre-vingt-dix jours.

In vitro : les mêmes résultats sont observés, les hématies des malades sont hémolysées rapidement en présence de sérum acidifié. Cependant la lyse complète n'est jamais obtenue à 60 % demeurent inaltérées suivant les cas.

L'HEMOLYSE EST PROVOQUEE PAR UN FACTEUR PLASMATIQUE NORMAL

Nous avons remarqué chez Mme G... que les transfusions d'hématies déplasmatisées et lavées trois fois en sérum physiologique, donc débarrassées de toute trace de protéïne sérique étaient très bien tolérées. Au contraire, au cours de deux transfusions faites avec des hématies lavées une seule fois, contenant par conséquent une certaine quantité de plasma, elle a présenté des phénomènes de déglobulisation importants.

Les transfusions de sang total déclenchent des crises encore plus inquiétantes à tel point qu'elles avaient été abandonnées lorsque l'on ignorait le mécanisme de l'hémolyse.

In vitro nous avons constaté que l'hémolyse se produit en présence de sérum normal acidifié. Elle n'a jamais lieu en milieu isotonique en l'absence de protéïne sérique.

CE FACTEUR AGIT A pH ACIDE.

HAM, en 1937, a mis en évidence le phénomène suivant : lorsque l'on donne du chlorure d'ammonium à un malade, il y a augmentation de l'hémoglobinurie. Au contraire, le bicarbonate de soude à dose forte (60 gr. par jour) supprime pendant quelques jours cette hémoglobinurie. Elle réapparaît cependant de façon exagérée au bout de six à sept jours.

Nous avons trouvé dans le déclenchement des épisodes hémoglobinuriques de M. Du..., un fort surmenage physique. Dans des conditions pareilles, la lactacidémie s'élève considérablement dans les vaisseaux capillaires. Expérimentalement, dans un muscle épuisé, le taux d'acide lactique est de : 0,4 gr. % alors qu'au repos il est de : 0,015 gr. %.

In vitro nous avons constaté que les hématies des deux malades subissaient une lyse à pH 6,8. Le phénomène se produit quel que soit le sérum employé (la compatibilité groupale étant évidemment observée).

hém. de malade + sér. frais (pH 6,8) ⟹ hémolyse + + +

CE FACTEUR EST THERMOLABILE et son action est fonction de la température.

Le sérum humain chauffé à 56° pendant trente minutes n'est plus capable de provoquer l'hémolyse des hématies de malade. Le facteur disparaît donc par simple chauffage.

Ce phénomène a été retrouvé chez les deux malades (test de DACIE).

In vitro l'on constate que l'action lytique d'un sérum vis-à-vis des hématies de malades passe par un maximum à 37° ; à des températures très basses il n'y a pas d'hémolyse. Ceci peut être constaté in vitro et in vivo.

Lors d'une hospitalisation une variante de l'épreuve d'EHRLICH a été faite sur M. D... Le malade a absorbé plusieur litres de boisson glacée au cours de la journée. Rien d'anormal n'a été constaté.

Un fait curieux a été observé in vitro : l'action lytique d'un sérum normal est fortement augmentée lorsque la suspension d'hématies dans ce sérum acidifié est refroidie à 8 ou 10° avant d'être portée à 37°. Ce phénomène ne doit cependant pas être confondu avec la réaction de DONATH LANDSTEINER dans laquelle l'hémolyse est provoquée par un anticorps biphasique dont la fixation sur l'hématie se fait à 0° (et non à 10°) et qui n'est jamais présent dans un sérum normal.

CE FACTEUR N'EST PAS LE COMPLEMENT.

Chauffé à 56° pendant trente minutes, le sérum a évidemment perdu le complément. Si on le recomplémente par du sérum de cobaye, il n'y a pas d'hémolyse.

CE FACTEUR DISPARAIT PAR VIEILLISEMENT.

DACIE s'était aperçu que les transfusions de sang conservé étaient beaucoup moins nocives que les transfusions de sang frais.

CE FACTEUR AGIT EN ASSOCIATION AVEC Mg + +.

JORDAN et DESFORGE en 1951, ont trouvé que le sérum dialysé par passage à travers des bougies de Barkfles, devenait inactif vis-à-vis des hématies de malade : l'activité hémolytique était restaurée par l'action d'un sel de magnésium ; au contraire, l'action du calcium était inhibante.

En résumé :

Nous trouvons donc un facteur lytique qui agit avec le maximum d'efficacité à pH 6,8 et à 37°.

— qui disparaît par chauffage à 56° pendant trente minutes et qui n'est pas le complément.

— qui n'est actif qu'en association avec Mg + +.

— qui est atténué par le vieillissement.

LA PROPERDINE ET L'HEMOLYSE

En raisonnant par analogie, PILLEMER et ses collaborateurs ont pensé que le SYSTEME PROPERDINE pouvait intervenir dans l'hémolyse des hématies de malades atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne.

RAPPEL :

Lorsque le sérum humain est traité par du zymosan (carbohydrate insoluble isolé de levures), il y a disparition de la fraction C'_3 du complément. (Le complément se compose de quatre constituants au moins : C_1, C_2, C_3, C_4. C_1 et C_2 sont thermolabiles et C_3, C_4 thermostables.) Pour que cette inactivation ait lieu, la température doit être de 37°. Lorsque la même opération est faite à une température inférieure à 20° C'_3 n'est pas inactivé et on obtient dans le mélange sérum + zymosan, un résidu insoluble, le résidu étant enlevé après centrifugation. Si l'on porte la solution à 37° C'_3 n'est pas inactivé.

PILLEMER à schématisé la réaction de la façon suivante :

A une température inférieure à 20° le zymosan s'unit à une substance du sérum qu'il appelle la properdine (mot dérivé du latin perdere = détruire). Le complexe properdine-zymosan est insoluble. A 37° properdine-zymosan (PZ) inactive C'_3.

1° LA PREMIERE REACTION PZ NECESSITE :

Une température supérieure à 10°,

des ions Mg + +,

La présence des constituants C'_1, C'_2, C'_4.

2° L'INACTIVATION DE C'_3 :

Température supérieure à 20°,

pH 6,8,

des ions Mg + +,

Dans ces réactions il n'y a pas de destruction de C'_1, C'_2, C'_4. PILLEMER a pensé que C'_3 serait une enzyme qui manifesterait son pouvoir lytique ou léthal après fixation avec la properdine.

LE SYSTEME PROPERDINE EST COMPOSE DE TROIS ELEMENTS :

$$C'_3 + \text{Properdine} + Mg + +$$

Pour PILLEMER les substances capables d'être fixées par la properdine sont nombreuses : bactéries, virus, débris d'hématies.

La properdine serait un des supports de l'immunité naturelle et sa répartition dans les sérums animaux est très variable : le sérum de rat aurait une teneur élevée, le sérum de cobaye en serait dépourvu.

NATURE DE LA PROPERDINE :

C'est une euglobuline existant dans la fraction sérique III stable à 48° ; l'activité disparaît par chauffage à 56° pendant 30', elle n'est pas détruite à — 20° et n'est pas nécessaire au déroulement des réactions immunologiques.

Pour RATNOFF elle est distincte du fibrinogène, de la thrombine, du plasminogène.

ROLE DE LA PRODERDINE DANS L'HEMOLYSE des hématies de malades atteints de maladie de Marchiafava Micheli.

L'action du zymosan avait été mise en évidence par HAM et DINGLE : un sérum ainsi traité (sérum RP) n'hémolyse plus les hématies de malade, bien que l'hémolyse soit encore réalisée vis-à-vis des hématies sensibilisées.

PILLEMER observe que le sérum traité au zymosan et après élimination du résidu PZ, ne retrouve son activité lytique vis-à-

vis des hématies de malade que par réintroduction de properdine d'origine humaine ou animale.

En partant du complexe PZ, PILLEMER a purifié suffisamment la properdine pour montrer que :

1° Seule la properdine n'est pas hémolytique ;

2° Un sérum privé de complément et enrichi en properdine n'est pas non plus hémolytique ;

3° Un sérum privé de Mg + + bien qu'ayant C'_3 et properdine, n'est pas hémolytique.

Dans toutes les expériences, pour obtenir l'hémolyse, il faut qu'il y ait les trois éléments : C'_3, Mg + +, properdine et un pH 6,8.

Les mêmes constatations sont faites avec des hématies tannées (TA cells), c'est-à-dire des hématies saines traitées par des solutions d'acide tannique : pour que la lyse se produise, il faut que le système properdine soit au complet avec les mêmes conditions physiques.

PILLEMER A CONSTATE DE PLUS QUE :

Le titre en properdine du sérum correspond à son activité lytique vis-à-vis des hématies de malade et vis-à-vis des hématies traitées à l'acide tannique.

LE MECANISME SERAIT LE SUIVANT :

Le stroma des hématies de malade remplacerait le zymosan et s'unit à la properdine, la lyse se produit par action de C'_3, il a été observé que la lyse est plus accentuée si on refroidit la suspension d'hématies vers 10° avant de la porter à 37°.

DOSAGE DE LA PROPERDINE :

1° Par inactivation de C'^3 : Des quantités variables de sérum normaux ou de properdine purifiée sont ajoutées à des quantités constantes de sérum RP et le mélange est placé à 37° C pendant une heure en présence d'une dose standard de zymosan, puis on mesure la chute de la teneur en C'_3. Par définition une unité de properdine est la quantité qui dans les conditions fixées abaisse la teneur du sérum en C'_3 de 120 à 0 unités.

2° Plus élégamment en comparant :

— d'une part l'activité du sérum à étudier sur des hématies tannées ;

— d'autre part l'activité du sérum sain sur des hématies tannées.

En admettant le raisonnement de PILLEMER, c'est évidemment le meilleur moyen de se rendre compte de l'activité du système hémolytique.

TECHNIQUE (J. DAUSSET) :

1° Temps tannage des hématies :

Des hématies humaines du groupe O datant de vingt-quatre heures, sont lavées quatre fois en eau physiologique et mises en suspension à 2 % dans une solution saline isotonique tamponnée à pH 7,4 par tampon Levine Meyer.

A cette suspension on ajoute un volume égal d'une solution d'acide tannique (Chimik Fabrik Amsterdam) au 2 ‰ en eau physiologique. Cette solution sera préparée chaque fois avant l'emploi.

Après vingt minutes de contact à la température du laboratoire, les hématies sont lavées une fois avec une solution saline isotonique tamponnée à pH 7,4 par tampon Levine Meyer.

On remet ensuite les hématies en suspension à 2 % dans le même tampon.

AUTRES REACTIFS :

Le sérum doit être frais et doit contenir du complément. A partir d'une solution de chlorure de magnésium à saturation en eau physiologique, on prépare extemporanément une solution au 1 ‰ en tampon Levine Meyer.

REACTION :

On prépare des dilutions du sérum en tampon Levine Meyer de façon à obtenir les titres suivants :

1/1, 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/6, 1/7, 1/8, 1/9, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80

A un volume du sérum ou de sa dilution on ajoute un volu-

me de la solution au 1 ‰ de chlorure de Mg et un volume de suspension d'hématies tannées.

Laisser une heure au contact au bain marie à 30° avec agitation des tubes toutes les dix minutes.

Après une dernière agitation, centrifuger les tubes, lire l'hémolyse.

L'hémolyse totale est comptée pour 10.

L'hémolyse partielle est appréciée de 0 à 9.

On fait l'addition des chiffres ainsi obtenus dont la somme apprécie le degré de l'hémolyse (Score).

La même opération est faite avec plusieurs sérums normaux, témoins, et la moyenne du Score des témoins est calculée. Le pourcentage de properdine dans le sérum malade est représenté par le rapport :

$$\frac{\text{Score du malade}}{\text{Score du témoin}}$$

Chez les deux malades nous avons observé un taux de properdine notablement abaissé et ceci en dehors de toute crise : il y aurait une consommation permanente de properdine.

LE TROUBLE GLOBULAIRE

Nous avons constaté que l'origine de l'hémolyse ne provient que de l'hématie.

Quelle est donc cette anomalie ?

En apparence les hématies de ces malades sont tout à fait normales. Le taux d'hémoglobine est identique à celui d'hématies saines.

La série érythrocytaire ne présente aucune anomalie. Chez M^me^ Gr..., le diagnostic d'anémie de Biermer était dû à une erreur d'interprétation.

— la résistance aux solutions salines est normale.

— Tout dernièrement Nussey avait été étonné par le peu de réaction des organes hématopoïétiques devant une telle anémie, alors que logiquement il y aurait dû y avoir une réaction hyperplasique. Il a étudié l'action des sérums sur les éléments cellulaires de la moelle osseuse et a remarqué que les éléments de la série érythrocytaire sont étonnament labiles. L'état de la

moelle ne reflète donc que l'activité du système hémolytique et l'on comprend pourquoi des moelles hypoplastiques et même aplastiques ont été trouvées chez ces malades.

Depuis déjà longtemps (1937), les auteurs avaient attiré l'attention sur la possibilité que les hématies des malades étaient déjà sensibilisées. Chez les deux malades nous trouvons des test directs de COOMBS négatifs ; il n'y a donc aucune preuve que les hématies possèdent à leur surface des anticorps incomplets. IL EST DONC LOGIQUE de penser que la STRUCTURE INTIME de l'hématie est anormale.

ROLAND, en 1950, a prétendu que les hématies avaient une structure lipoïdique anormale. Dans une série d'expériences il lavait des hématies saines avec des solutions diluées d'alcool. Les globules obtenus étaient hémolysés de la même façon que les hématies de malade.

Cette expérience n'est pas constante.

CROSBY a émis l'hypothèse que les protéines étaient plus vraisemblablement anormales : les hématies trypsinées ont cependant un comportement différent.

Nous avons pu constater que les hématies tannées sont celles qui se rapprochent le plus des hématies de malades, si l'on considère leur sensibilité envers le « système properdine ».

RECHERCHE D'UNE STRUCTURE ANORMALE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE :

En 1951, MATTHES et LINDMAN ont étudié la structure des hématies de malades atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne au microscope électronique. Cet examen a révélé

une structure anormale. Des travaux plus récents (1955 : BRAUNSTEINER) sont venus confirmer ce fait.

Nous avons examiné les hématies des deux malades au microscope électronique « Philips » EM 100. Métallix, modifié 1956, de la fondation « BERGONIE »

TECHNIQUE : Le sang recueilli sur héparine, après ponction veineuse est hémolysé dans trente fois son volume d'eau distillée. Après centrifugation, le culot est lavé dans du sérum isotonique, puis nouvelle centrifugation et élimination de l'hémoglobine restante.

Le culot est après lavage dans l'eau distillée dilué dans trente fois le volume initial de sang d'eau distillée, afin d'éliminer les traces de chlorure issues du plasma.

Une goutte est déposée sur les membranes de « Formwar » des porte-objets, puis séchée à 37°. L'examen au microscope électronique a été fait sans fixation.

RESULTATS :

HEMATIES NORMALES. — La majorité des hématies présente des déchirures dûes à l'éclatement au cours de l'hémolyse.

L'aspect du stroma apparaît finement réticulé, cependant sur certaines hématies (environ 5 à 10 %) la structure est plus grossière et apparaît sensiblement granitée.

HEMATIES PRELEVEES SUR M. Du... — La prise de sang a été faite le lendemain d'une crise de déglobulisation, le malade avait reçu plusieurs transfusions d'hématies déplasmatisées et lavées (l'équivalent de 3 litres de sang normal environ) et prenait régulièrement 4 à 6 comprimés de Cortancyl à 5 mg. par jour.

Nous avons trouvé 50 à 60 % d'hématies tachetées et fortement granuleuses.

Nous avons pu observer des différences notables sur certains groupes d'hématies : le stroma a l'air de subir une précipitation sur certains points d'hématies alors que le réticulum est très fin sur les autres.

M^me^ Gr... — (En rémission relative. Traitement actuel : 4 à 6 comprimés par jour de cortancyl à 5 mg.).

La majorité des hématies (70 à 80 %) apparaissent tachetées et granuleuses. Le plus souvent les hématies ne présentent pas de déchirures dûes à l'éclatement de la membrane comme si l'hématie s'était vidée « comme une éponge » de l'hémoglobine.

Il est difficile de tirer des conséquences de ce que nous avons observé dans des conditions non physiologiques (les hématies lysées sont étudiées dans un vide relatif) cependant il semble que :

1° Les membranes se sont rompues différemment au cours de l'hémolyse.

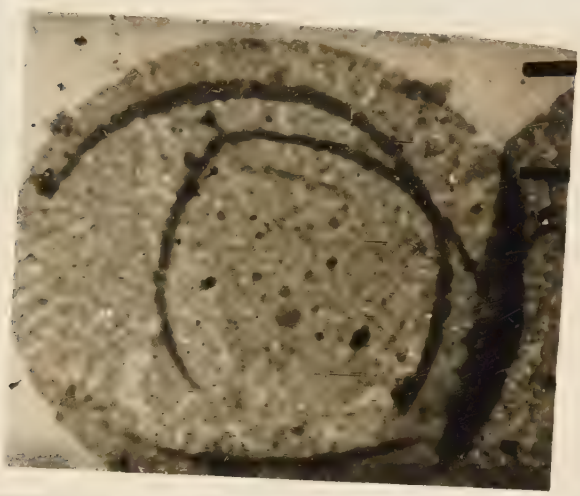
Sujets sains : déchirures franches.

sujets malades : une forte proportion, surtout chez M^me^ Gr... (50 à 60 %) ne présente pas de déchirures.

2° Nous avons trouvé chez les malades, une forte proportion d'hématies granuleuses, 80 % chez M^me^ Gr... et 60 % chez M. Du..., cependant toutes les formes sont observées, depuis l'hématie parfaitement réticulée jusqu'à l'hématie fortement granuleuse.

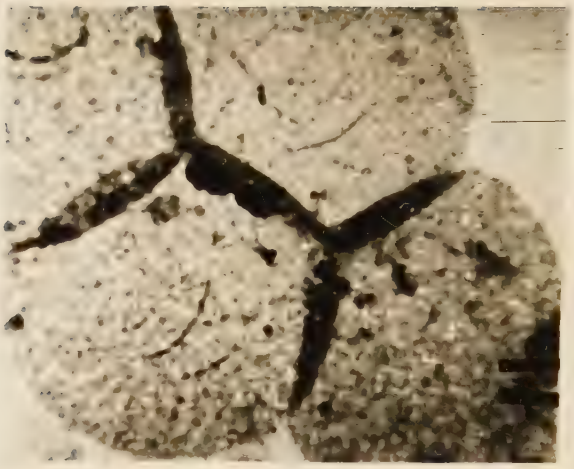
3° Les condensations donnant l'aspect granuleux sont plus évidentes chez M. Du... que chez M^me^ Gr...

4° Nous avons observé chez le sujet sain 5 à 10 % d'hématies relativement granuleuses ; ces hématies sont peut-être des hématies déjà relativement vieilles et prêtes à subir une hémolyse physiologique.

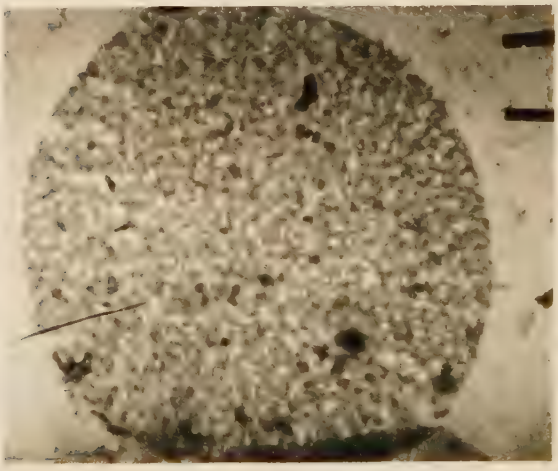


Hématie normale. — Les deux repères mettent en évidence le grossissement — (le $\mu \longrightarrow 2^{c/m}$) — grossissement d'environ 200.000. L'hématie a éclaté au cours de l'hémolyse et laisse apparaître les déchirures.

Le stroma est finement réticulé.



M. D... — Groupe d'hématies : 3 hématies apparaissent fortement granuleuses (comme si le stroma s'était condensé sur certains points), la 4e (à 2 heures), semble normale. Nous avons trouvé une proportion (de 60 % environ) fortement granuleuse, le malade avait reçu une tranfusion d'hématies saines la veille de l'examen.



Mme G... — Grossissement : 160.000 environ. L'hématie apparaît nettement spongieuse.
La malade était en rémission relative.

MANIFESTATIONS SEROLOGIQUES

L'interprétation physiopathologique que nous venons de décrire rend compte des manifestations sérologiques observées in vitro.

Nous avons montré que les hématies de malades sont hémolysées par le « système properdine ».

Nous avons observé des tests de HAM positifs chez les deux malades.

Ce test fait intervenir l'action du sérum d'un sujet normal ou du sérum du malade sur l'hématie du malade. Ceci à pH 6,8 et à la température du laboratoire.

Sérum + hématies (pH 6,8) ⟿ hémolyse + + +

Autrement dit, toutes les conditions sont réalisées pour que le système Properdine puisse hémolyser les hématies de malades.

TEST DE DACIE :

L'épreuve précédente est complétée par l'épreuve au sérum inactivé par chauffage à 56° pendant 30' ; il n'y a pas

d'hémolyse car la properdine et les parties thermolabiles du complément ont été détruites.

Si le sérum est recomplémenté par le sérum de cobaye, l'hémolyse ne se produit pas car ce sérum est pauvre en properdine.

LA PROPERDINE ET LES CARACTERES CLINIQUES DE LA MALADIE

Nous avons observé chez les deux malades que des crises hémoglobinuriques importantes surviennent au décours des infections intercurrentes. Ce fait peut s'expliquer par l'activité bactéricide et antivirale de la properdine.

Le sérum humain est doué d'une action bactéricide. Ceci se révèle par exemple lorsqu'un sérum est contaminé par une suspension de bactéries vivantes et incubées pendant quelques heures à 37°. Après cette période, le nombre des microorganismes vivants est généralement réduit d'un facteur de 10^5.

PILLEMER a démontré que le sérum privé de properdine (sérum RP) perd cette activité bactéricide, mais qu'elle est retrouvée après addition de properdine. La même constatation a été faite vis-à-vis des virus.

> Les sujets atteints de maladie de Marchiafava-Micheli ayant un taux de properdine abaissé de façon permanente sont donc plus sensibles aux infections.

Des expériences assez récentes ont mis un autre fait en évidence :

Après injection de zymosan chez les animaux, le taux de properdine tombe pour remonter un peu plus tard bien au-dessus de la valeur normale.

Cela arrive également après injection de bactéries telles que : schigella dysenteriae, escheria coli chez la souris.

Par exemple chez des souris injectées avec 1/10 de milligramme de substance séchée préparée à partir des parois celluraires de escheria coli on a constaté une chute rapide du taux de properdine et, après quelques jours, une hausse importante. Le changement dans la résistance aux infections bactériennes de l'animal va de pair avec la fluctuation de la teneur en properdine ; 30' après l'injection, la résistance subit une baisse du vingt au cinquantuple pour remonter, après 48 heures, d'environ le cinquantuple (J.J. Van LOGHEM Jr).

> Il est donc tout à fait logique que les malades présentent des crises de déglobulisation au décours d'affection virales et bactériennes puisque le taux de properdine s'élève considérablement à cette période.

Il a été observé de plus, qu'au cours des chocs opératoires et hémorragiques, le taux de properdine subissait une chute puis une hausse importante par la suite.

Il est alors facile de comprendre les résultats catastrophiques de la splenectomie chez de tels malades.

LES DIFFICULTES THERAPEUTIQUES

Les deux malades que nous avons observés ont reçu des traitements antianémiques à peu près identiques. Extraits hépatiques, vitamines B 12, et médication martiale.

Aucune amélioration n'a été notée, il semble même que l'anémie de Mme Gr... ait considérablement augmenté au cours d'un traitement intensif. Tout se passe comme si en essayant d'accélérer l'hématopoïèse, les hématies libérées étaient encore plus sensibles au système hémolytique.

Nous n'avons relevé dans les observations que nous avons lues, aucune amélioration par les traitements antianémiques.

A la suite des expériences faites in vitro, montrant le rôle du pH dans les phénomènes d'hémolyse, HAM, en 1937, a essayé de soumettre ces sujets à une ALCALOSE prolongé en leur faisant absorber per os de fortes quantités de bicarbonate de soude pendant huit jours. L'hémoglobinurie disparaissait pour réapparaître très augmentée après ce laps de temps.

Les anticoagulants ont aussi été employés par analogie : les résultats ont été inconstants, cependant en 1955, BRAUNSTEINER a rapporté le cas d'un malade très amélioré par le Dicoumarol : le taux de prothrombine avait été abaissé à 30 %.

L'ACTH, LA CORTISONE ET LA ϐ CORTISONE ont été essayés avec des résultats plus ou moins satisfaisants.

Nous avons pu constater chez Mme Gr... une nette sédation des phénomènes douloureux, en particulier des lombalgies et des hépatalgies. L'hémoglobinurie paraît diminuer au cours des crises lorsque l'on porte les doses à 6 comprimés de Cortancyl par jour.

M. Du... semble, lui aussi, bénéficier de cette thérapeutique ; récemment, alors qu'il était en crise, il a constaté une diminution très nette des douleurs, cependant l'hémoglobinurie persistait avec la même intensité.

LA SEULE THERAPEUTIQUE LOGIQUE était de transfuser ces malades de façon intensive lorsque le taux de l'anémie s'abaissait à un niveau trop dangereux pour le malade.

Les premières transfusions ont été catastrophiques, elles déclenchaient le plus souvent malgré toutes les précautions des crises de déglobulisation. Ce phénomène s'explique facilement lorsque l'on considère le taux élevé de properdine du plasma normal par rapport à celui des malades atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne.

Nous avons observé ce phénomène chez Mme Gr... à une échelle plus réduite lorsque les hématies avaient été déplasmatisées et lavées une seule fois au sérum physiologique, donc imparfaitement débarrassées de toute trace de protéine sérique.

Au contraire, les premières transfusions d'hématies lavées trois fois avaient été très bien tolérées et l'état général de la malade considérablement amélioré, l'hémoglobinurie avait cessé pendant plus d'un mois.

Il semble donc que le fait de freiner l'hématopoïèse par des transfusions, permette à la moelle osseuse d'élaborer des hématies sensiblement normales.

LES PROBLEMES PATHOGENIQUES NON ELUCIDES

JORDAN avait observé que la coagulation du sang in vitro favorise l'hémolyse. Des travaux plus récents de CROSBY et DAMESHEK en 1950, sont venus confirmer ce fait.

Ces auteurs ont remarqué que le sérum exsudé d'un caillot de sang du malade était plus chargé en hémoglobine que le plasma issu du sang recueilli sur anticoagulant.

Nous avons pu constater que l'addition de thrombine à du sérum sain augmentait la réaction d'hémolyse

pH 6,8 : hématie de malade + sérum normal + thrombine ⟿ hémolyse + + +

ce test (test de CROSBY) était net chez les deux malades.

De plus nous avons conservé quatre jours le sang des deux malades après HEPARINISATION ; la teinte du plasma surnageant restait identique.

L'action activante de la thrombine a été retrouvée par presque tous les auteurs et LYONS a prétendu que les hématies de

malades subissaient l'hémolyse en milieu isotonique lorsque l'on introduisait un caillot de fibrine. La lyse se produisait même lorsque les hématies se trouvent en suspension des des solutions de fibrinogène que l'on fait coaguler par la suite avec de la thrombine.

Les auteurs ont pensé qu'au cours de la coagulation, un facteur jusque là inactif apparaissait doué de propriétés hémolytiques. Ils ont cru pouvoir l'identifier au facteur VI (AC globulin) thermolabile.

PILLEMER cependant, a montré qu'un plasma privé par le sulfate de Baryum du facteur VI était encore hémolytique et qu'un sérum dialysé ayant donc conservé le facteur VI avait perdu le pouvoir hémolytique. Recemment on a découvert par des dosages spécifiques que les préparations de thrombine réputées pures étaient souillées de traces de properdine.

Il n'en reste pas moins que le problème de la coagulation et de l'hémolyse reste entier.

AUTRE DIFFICULTE : LE CARACTERE NOCTURNE DE L'HEMOGLOBINURIE :

Nous avons observé chez les deux malades une nette prédominance nocturne dans l'apparition de l'hémoglobinurie surtout en début de crise.

Ce rythme n'est pas dû « à la nuit » mais au sommeil. M. Du... constate une nette augmentation de la teinte des urines lorsqu'il se repose et dort l'après-midi. Les urines sont foncées à 8 heures du soir.

HAM, en 1939, a inversé le sommeil en faisant dormir le malade le jour seulement : les urines étaient rouge foncé à la fin du sommeil.

Les auteurs ont pensé que le ralentissement du rythme respiratoire entraînait une accumulation de Co^2 et par conséquent une acidose.

CROSBY a pu infirmer ce raisonnement en mettant un malade pendant dix jours sous respiration contrôlée afin d'éviter toute rétention de Co^2. Malgré toutes les précautions prises, l'hémoglobinurie apparut pendant le sommeil.

Certaines modifications humorales ont été observées durant le sommeil, en particulier une augmentation du taux de potassium et diminution du calcium.

Sont-elles à l'origine du déclenchement de l'hémolyse ? in vitro le calcium a une action anti hémolysante mais in vivo son action apparaît négligeable, nous avons pu l'observer chez M^me^ Gr...

CONCLUSIONS

1° La maladie de Marchiafava-Micheli se sépare nettement des autres anémies hémolytiques par ses caractères cliniques et biologiques ;

2° Nous avons pu confirmer in vitro et in vivo que le plasma des malades atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne, ne présente aucune anomalie dans l'état actuel des connaissances ;

3° L'hémolyse est due à une fragilité particulière des hématies qui sont anormalement sensibles à l'action lytique du système « properdine » ;

4° Il est difficile de dire quelle est exactement l'origine de ce trouble globulaire ; cependant les examens que nous avons faits au microscope électronique laissent à penser que la structure de l'hématie est anormale ;

5° Les hématies lavées de donneurs sains, transfusées aux malades constituent la seule thérapeutique logique car ces hématies ont une durée de vie normale.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire

Vu, Bordeaux, le 13 Juin 1957
Le Doyen,
R. SIGALAS.

Vu, bon a imprimer :
Le Président du Jury,
Pr DE GRAILLY.

Vu et permis d'imprimer
Bordeaux, le 17 Juin 1957
Le Recteur de l'Académie,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

ANDERSSON B., Splenectonised case of nocturnal hemoglobinuria (Marchiafava-Micheli, Nazari Micheli Syndrome). « Acta. Med. Scvandinav », 1952, **143**, 197-206.

BOUSSER J., Etude sérologique et thérapeutique du syndrome de Marchiafava-Micheli. « Sang », 1950, **21**, 181-184.

BRAUNSTEINER H., CUSINGER E., PAKESH F.,, Confirmation of a structural abnormallity in the stroma of erythrocytes from PNH after hemolysis in distilled water. « Blood », 1956, Blat **11**, (8.)

CAIN A., CATTAN R., HARRISP J.-V., et BOUWENS, Van den BOIJEN G., Anémie hemolytique ictérigène avec hémoglobinurie nocturne et hémosidérinurie permanente. « Bull. Méd. d. Hôp. de Paris », 1937, janvier, t. **53.** pp. 70-85.

CLAPP M.-P., WILLIAMS M.-J., MENDEL J.-L., Observations on the hemolytic mechanism of PNH. « Blood », 1952, **7**, 11-17.

CROIZAT P., Etude anatomo clinique de la maladie de Marchiafava-Micheli. « Sang », 1948, **19,** 218-219.

CROSBY W.-, Paroxysmal, nocturnal, hemoglobinuria a specific test for the desease based on the ability of thrombin to activate the hemolytic factor. « Blood », 1950, **5,** 843.

CROSBY W.-H., BELL J.-C., Nocturnal hemoglobinuria. Role of carbon dioxid in mechanism of hemolysys ; experimental study Case complicated by episodes of hemoglobinuria due to cold. « Revue Hemat. », 1951, **6,** 299-310.

CROSBY W.-H., Paroxysmal, nocturnal hemoglobinuria plasma factors of the hemolytic system. « Blood » 1953, **8,** 444.

DACIE J.-V., Transfusion of saline washed red cells in Nocturnal hemoglobinuria (Marchiafava desease). « Clin. Sci. », 1948, **7,** 65.

DACIE J.-W. and MOLLISSON P.-L., Survival of transfused erythrocytes from a donor with norturnal hemoglobinuria. « Lancet », 1949, **1,** 390.

DACIE J.-V., and RICHARDSON, The influence of pH in vitro hemolysis in norturnal hemoglobinuria. « J. Poh. », **55,** 375.

DACIE, Present state of nocturnal hemoglobinuria in Marchiafava Micheli Syndrome 1949. « Revue Hemat. », **4,** 577-592.

DACIE J.-V., Diagnosis and mechanism of hemolysis in chronic hemolytic anemia with nocturnal hemoglobinuria. « Blood », 1949, **4,** 1.183-1.195.

HAM T.-K., Chronic hemolitic anemia with PNH a study of the mechanism of hemolysis in relation to acid, case equilibrium. « New England J. Med. », 1937, 217, 915.

JACQUET P., DEROBERT L., PLAS F., HADENGUE A., Syndrome de Marchiafava-Micheli. « Semaine d. Hôp. Paris », 1949, juillet **25,** 2.143-2.146.

KALANT N.-L., CYR D.-P., Traitement of Nocturnal Hemoglobinuria with A C T H, « Blood », 1952. june, 607-612.

LE FLEN, La Maladie de Marchiafava-Micheli. « Thèse », Bordeaux, 1950.

LETMANN, Possible Nocturnal Hemoglobinuria with pronounced pancytopenia, reticulocytopenia and without hemoglobinuria simulating aplastic anemia. « Blood », 1952, aug., **7,** 867-869.

LYONS R.-N., Role of Blood coagulation in production of hemolysis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. « Ann. Med. », 52, noy, 17, 899.

NUSSY A.-M., DAWSON D.-W., Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria; Case study including evidence of affection of the Marrow in the desease. « Blood » 1956, aug. 11 (8).

PILLEMER L., BLUM, LEPOW I.-M., ROSS O.-A., TODD E.-W. et LAW A.-C., The Properdin system and immunity. I : Demonstration and isolation of a new serum protein properdin, and ils role in immune phenomena. « Science », **120,** 279-285, 1954.

PILLEMER L., SCHOENBERG M.-D., BLUM L. et WURZ L., Properdin system and immunity. II : Interaction of the properdin system with polysaccharides. « Science », **122,** 545-549, 1955.

PILLEMER L., LEPOW L., WURZ L., et TODD E.-W., The Properdin system and immunity. III : The zymozan essay of properdin. « J. Exp. Med. », 103, 1-13, 1956.

POWELL V.-E., HOFFMANN J., Nocturnal hemoglobinuria treated with A C T H without Benefit. « Blood », oct. 1952, **7,** 1.038-1.041.

VAN LOGHEM J.-J., DE MENDES DE LEON, Two different serologic mechanism of paroxysmal cold hemoglobinuria illustred by 3 cases. « Blood », 1952, déc. **7,** 1.196-1.209.

Dépôt légal effectué en 1957 (2e trimestre)

31 3832 — Imprimerie R. Ottaviani, 4, place Decazes, Libourne (Gironde)